

ELECTRICAL DETECTOR FOR FINE SUBSTANCE ON CHIP**Publication number:** JP2003202321**Publication date:** 2003-07-18**Inventor:** IN TAISEI; CHO YOON-KYOUNG; KANG SEONG-HO;
LEE YOUNG-SUN; LIM GEUN-BAE**Applicant:** SAMSUNG ELECTRONICS CO LTD**Classification:**

- International: G01N33/483; C12M1/34; C12N15/09; G01N27/02;
G01N27/22; G01N27/447; G01N33/53; G01N37/00;
G01N33/483; C12M1/34; C12N15/09; G01N27/02;
G01N27/22; G01N27/447; G01N33/53; G01N37/00;
(IPC1-7): G01N27/447; C12M1/34; C12N15/09;
G01N27/02; G01N33/483; G01N33/53; G01N37/00

- European: G01N27/22D; G01N27/447B3B; G01N27/447C7

Application number: JP20020320074 20021101**Priority number(s):** KR20010069502 20011108**Also published as:**

EP1312683 (A2)
US2003085719 (A)
KR20030038084 (.
EP1312683 (A3)
CN1417574 (A)

more >>

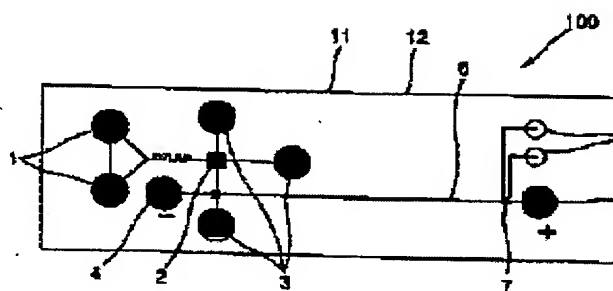
Report a data error h

Abstract of JP2003202321

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an electrical detector for a fine substance usable for an analyzing system of a fine substance.

SOLUTION: The detector comprises a first substrate having a first surface 11 including at least a fine flow passage 6 and at least a storage that can be fluid-communicated with this passage 6, a second substrate on the first substrate having a second surface 12 joined to the first surface 11 of the first substrate and a detector on the second surface of a second substrate along the fine flow passage 6, that includes at least a pair of first electrodes 5 positioning with facing to the bottom face of the fine flow passage 6.

COPYRIGHT: (C)2003,JPO



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-202321

(P2003-202321A)

(43) 公開日 平成15年7月18日 (2003.7.18)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト* (参考)
G 0 1 N 27/447		C 1 2 M 1/34	B 2 G 0 4 5
C 1 2 M 1/34		G 0 1 N 27/02	D 2 G 0 6 0
C 1 2 N 15/09		33/483	F 4 B 0 2 4
G 0 1 N 27/02		33/53	M 4 B 0 2 9
33/483		37/00	1 0 1

審査請求 有 請求項の数16 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-320074(P2002-320074)

(22) 出願日 平成14年11月1日 (2002.11.1)

(31) 優先権主張番号 2 0 0 1 - 0 6 9 5 0 2

(32) 優先日 平成13年11月8日 (2001.11.8)

(33) 優先権主張国 韓国 (K R)

(71) 出願人 390019839

三星電子株式会社

大韓民国京畿道水原市八達区梅灘洞416

(72) 発明者 尹 大 成

大韓民国京畿道城南市盆唐区亭子洞247-
2番地101号

(72) 発明者 趙 允 ▲きょう▼

大韓民国京畿道水原市八達区豊通洞1053-
2番地 風谷マウル信明アパート203棟
1605号

(74) 代理人 100072349

弁理士 八田 幹雄 (外4名)

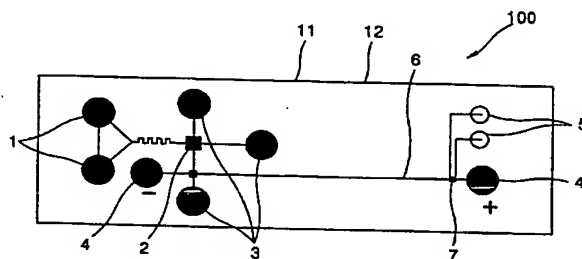
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 チップ上の電気的な微細検出器

(57) 【要約】

【課題】 微細分析システムに利用可能な電気的な微細検出器を提供する。

【解決手段】 少なくとも1本の微細流路6及びこの微細流路6と流体疎通が可能な少なくとも1つの貯蔵部1を含む第1の表面11を有する第1の基板と、第1の基板の第1の表面11上に接合された接する第2の表面12を有しており、第1の基板上に位置する第2の基板と、微細流路6に沿って第2の基板の第2の表面上に配され、微細流路6の底面に対向して位置する少なくとも1対の検出用の第1の電極5を含む検出部と、を有する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 少なくとも 1 本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも 1 つの貯蔵部を含む第 1 の表面を有する第 1 の基板と、

前記第 1 の基板の前記第 1 の表面上に接する第 2 の表面を有しており、前記第 1 の基板上に位置する第 2 の基板と、

前記微細流路に沿って前記第 2 の基板の前記第 2 の表面上に配され、前記微細流路の底面に対向して位置する少なくとも 1 対の検出用の第 1 の電極を含む検出部と、を備えることを特徴とする電気的な微細検出器。

【請求項 2】 前記第 2 の基板の前記第 2 の表面上に、前記微細流路の両端周辺に配される少なくとも 1 対の電気泳動用の第 2 の電極をさらに含み、当該微細流路は、電気泳動のための毛細管チャンネルとして用いられることを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 3】 前記貯蔵部は、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) が行われる少なくとも 1 つの PCR チャンバを含むことを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 4】 前記第 1 及び第 2 の基板のうち少なくとも 1 つは、注入口及び排出口を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 5】 前記第 1 の電極は、インターデジット電極であることを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 6】 前記検出部は、前記微細流路に沿って互いに所定間隔をおいて配列された少なくとも 2 対の第 1 の電極を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 7】 前記第 1 及び第 2 の基板は、ガラス、シリコン、石英、ポリメチルメタクリレート (PMM A)、ポリジメチルシロキサン (PDMS)、ポリイミド、ポリプロピレン、ポリカーボネート、活性化したアクリルアミド、及び、これらの複合体のうちから選ばれた 1 種以上の材料を含むことを特徴とする請求項 1 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 8】 前記第 1 の基板の前記第 1 の表面上に、少なくとも 1 本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも 1 つの貯蔵部を形成する段階と、第 2 の基板の第 2 の表面上に少なくとも 1 対の検出用の第 1 の電極を形成する段階と、前記第 1 の電極が前記微細流路の底面に対向して位置するように前記第 1 の基板の前記第 1 の表面に前記第 2 の基板の前記第 2 の表面を接合する段階とを含むことを特徴とする電気的な微細検出器の製造方法。

【請求項 9】 第 2 の基板上の微細流路の両端近傍の位置に少なくとも 1 対の電気泳動用の第 2 の電極を形成する段階をさらに含むことを特徴とする請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】 前記第 1 の基板の前記第 1 の表面に前記第 2 の基板の前記第 2 の表面を接合する段階は、ポリマーフィルム接合法、陽極接合法または熱接合法により行われることを特徴とする請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】 (a) 少なくとも 1 本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも 1 つの貯蔵部を含む第 1 の表面を有する第 1 の基板と、

前記第 1 の基板の前記第 1 の表面上に接する第 2 の表面を有しており、前記第 1 の基板上に位置する第 2 の基板と、前記微細流路に沿って前記第 2 の基板の前記第 2 の表面上に配され、前記微細流路の底面に対向して位置する少なくとも 1 対の検出用の第 1 の電極を含む検出部とを備える電気的な微細検出器を微細分析システムに与える段階と、

(b) 前記第 1 の電極に電力を供給する段階と、

(c) 前記微細流路内にサンプルを注入する段階と、

(d) 前記サンプルが前記微細流路に沿って流れる時に前記検出部でサンプルの誘電特性の変化を検出することによりサンプル内の生物質を確認する段階とを含むことを特徴とする微細分析システムにおけるサンプルモニタリング方法。

【請求項 12】 前記誘電特性は、誘電定数、誘電損失、インピーダンスまたはアドミタンスであることを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】 前記生物質は、核酸、蛋白質、オリゴヌクレオチド、及び細胞のうちから選ばれた少なくとも 1 種以上の物質を含むことを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】 前記電気的な微細検出器は、前記第 2 の基板の前記第 2 の表面上に、前記微細流路の両端周辺に配される少なくとも 1 対の電気泳動用の第 2 の電極をさらに含み、前記 (c) 段階で注入されたサンプルは、電気泳動によって微細流路に沿って移動しつつ DNA バンドを形成することを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

【請求項 15】 前記 (b) 段階前にサンプルを PCR する段階をさらに含み、前記検出器は、少なくとも 1 つの PCR チャンバを含み、サンプルは、PCR チャンバ内で PCR された PCR 生成物を含むことを特徴とする請求項 11 に記載の電気的な微細検出器。

【請求項 16】 (d) 段階の誘電特性の変化の検出は、5 mV ~ 2 V の平方自乗平均電圧 V_{rms} 及び 0 V ~ 10 V のバイアス電圧条件下で、1 Hz ~ 100 MHz の範囲で周波数を固定し、または周波数を変化させつつスキャンして誘電特性の変化を測定することにより行われることを特徴とする請求項 11 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、微細検出器、及びその製造方法、ならびに生物質のサンプルモニタリング

方法に係り、より詳細には、チップ上において試料の誘電特性を測定することができ、製造が簡便であり、且つ、経済的な電氣的微細検出器、及びその製造方法、ならびにこれを用いて試料内の生物質を検出するサンプルモニタリング方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、人間ゲノムが完全に解読されて一般に公開されるに伴い、人間の遺伝情報を短時間内に検索して疾病の症候を判別することができるバイオチップに関する研究が盛んになされている。既に市販されているバイオチップにおいては、ほとんどの場合、血液や細胞の分離、精製、遺伝子増幅、電気泳動を経て純粋に回収された遺伝子試料を使用する。

【0003】バイオチップ、特にラブ・オン・チップ（Lab-on-chip）は、生物化学的な分析において興味を持たれており、このようなバイオチップにおいては、PCR（ポリメラーゼ連鎖反応法）及びCE（毛细管電気泳動）は、2つの重要な技術である。PCRは、生体外の装置における核酸分子の増幅方法の一つである。また、CEチップも、極めて高速で感度の高い分離が可能であるという特徴を有する。特に、PCE/CEチップとよばれるバイオチップは、単一のチップ装置内においてPCR増幅及びCEが同時に行えるように統合化したチップを意味する。

【0004】現在、MEMS技術（いわゆるマイクロマシニング）を用いてシリコン、ガラス、またはポリマー基板に流路と反応路（チャンバ）とを形成したチップ型のPCR素子及びCEチップ（電気泳動チップ）が活発に開発されつつある。

【0005】PCRチップや電気泳動チップ上において分離された所望の純粋な遺伝子を検出する方法は、蛍光検出法、UV/VIS吸光度法などの光学測定方法、及び電気化学法などに依存している。しかし、これらの方法は大掛かりで且つ高価の装備を必要とするばかりではなく、検出方法の複雑性のために素子をチップ化させるのに多くの問題点を持つ。

【0006】例えば、光学測定法の場合には、まず、レーザー光源、レンズ、フィルター、及びミラーなどの様々な光部品が必要とされるために相当のコスト及び空間が要る。従って、集積化の上で相当の難点がある。その解決手段として、近年、チップの内部にレーザーダイオード及びフィルターを薄膜状に搭載した素子が開発されてきているが、これもまた製作コストが高いために使い捨てを目指す前記のチップには向いていない。

【0007】電気化学法の場合には3つ以上の電極を必要とし、また、目的に応じて、各電極の材質を2種以上使用しなければならないためにその構造が複雑であり、その結果、製造工程が複雑になる。さらに、検出条件と実際のPCR生成物の溶液とを適合させる必要があるために、測定法に適した溶液環境を造成しなければなら

ず、測定時に相当の煩わしさが伴う。

【0008】さらに、従来の技術として、アレイ型の混成化チャンバ（hybridization chambers）内に電極を設け、この電極に探針DNA（プローブDNA）を固定した後、ターゲットDNAが反応をした場合と反応する前とを誘電定数または誘電損失の変化を測定して検出する方法がある。しかしながら、この方法は疾病診断用であって、探針DNAそのものをチャンバ内の電極上に固定した後、固定されたDNAが一本鎖から2本鎖へと変わることを観察することができるだけであって、微細流路内で流体中に浮遊して移動するDNAを検出することはできなかった。

【0009】そこで、本発明者らは、以上のような従来の技術の問題点を克服するために鋭意研究を重ねてきた結果、少なくとも1本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも1つの貯蔵部を含む第1の表面を有する第1の基板と、第1の基板の第1の表面上に接する第2の表面を有しており、前記第1の基板上に位置する第2の基板と、微細流路に沿って第2の基板の第2の表面上に配され、微細流路の底面に対向して位置する少なくとも1対の検出用の第1の電極を含む検出部と、を備えることを特徴とする電氣的な微細検出器を利用する場合、チップの製作工程が単純化し、且つ、製造コストが低くなるということを確認し、本発明を完成するに至った。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明の主な目的は、チップの製作工程を単純化し、且つ、製造コストが低くなる長所を有し、チップの微細流路において試料の電氣的、誘電的特性を測定することができる電氣的な微細検出器を提供するところにある。

【0011】本発明の他の目的は、前記検出器を用いて試料の誘電定数、誘電損失、インピーダンスまたはアドミタンスなどの誘電的特性の変化をモニタリングすることにより、試料内の生物質を検出する方法を提供することにある。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明の主な目的を達成するために、本発明は、少なくとも1本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも1つの貯蔵部を含む第1の表面を有する第1の基板と、第1の基板の第1の表面上に接する第2の表面を有しており、前記第1の基板上に位置する第2の基板と、微細流路に沿って第2の基板の第2の表面上に配され、微細流路の底面に対向して位置する少なくとも1対の検出用の第1の電極を含む検出部と、を備える電氣的な微細検出器を提供する。

【0013】さらに、好ましくは、第2の基板の第2の表面上に、微細流路の両端周辺に配される少なくとも1対の電気泳動用の第2の電極をさらに含み、この微細流

路は、電気泳動のための毛細管チャンネルとして用いられる。

【0014】さらに、好ましくは、前記貯蔵部は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）が行われる少なくとも1つのPCRチャンバを含む。

【0015】さらに、好ましくは、前記第1及び第2の基板のうち少なくとも1つは、注入口及び排出口を含む。

【0016】さらに、好ましくは、第1の電極は、インターデジット電極である。

【0017】さらに、好ましくは、検出部は、微細流路に沿って互いに所定間隔をおいて配列された少なくとも2対の第1の電極を含む。

【0018】さらに、好ましくは、前記第1及び第2の基板は、ガラス、シリコン、石英、PMMA、PDM S、ポリイミド、ポリプロピレン、ポリカーボネート、活性化したアクリルアミド、及びこれらの複合体のうちから選ばれた1種以上の材料を含む。

【0019】前記他の目的を達成するために、本発明は、第1の基板の第1の表面上に、少なくとも1本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも1つの貯蔵部を形成する段階と、第2の基板の第2の表面上に少なくとも1対の検出用の第1の電極を形成する段階と、第1の電極が微細流路の底面と対向して位置するように第1の基板の第1の表面に第2の基板の第2の表面を接合する段階とを含むことを特徴とする電気的な微細検出器の製造方法を提供する。

【0020】さらに、好ましくは、第2の基板上の微細流路の両端近傍の位置に少なくとも1対の電気泳動用の第2の電極を形成する段階をさらに含む。

【0021】さらに、好ましくは、前記第1の基板の第1の表面に第2の基板の第2の表面を接合する段階は、ポリマーフィルム接合法、陽極接合法または熱接合法により行われる。

【0022】前記他の目的を達成するために、本発明はまた、（a）少なくとも1本の微細流路及びこの微細流路と流体疎通が可能な少なくとも1つの貯蔵部を含む第1の表面を有する第1の基板と、第1の基板の第1の表面上に接する第2の表面を有しており、前記第1の基板上に位置する第2の基板と、微細流路に沿って第2の基板の第2の表面上に配され、微細流路の底面と対向して位置する少なくとも1対の検出用の第1の電極を含む検出部とを備える電気的な微細検出器を微細分析システムに与える段階と、（b）前記第1の電極に電力を供給する段階と、（c）微細流路内にサンプルを注入する段階と、（d）サンプルが微細流路に沿って流れる時に検出部でサンプルの誘電特性の変化を検出することによりサンプル内の生物質を確認する段階とを含むことを特徴とする微細分析システムにおけるサンプルモニタリング方法を提供する。

【0023】さらに、好ましくは、前記誘電特性は、誘電定数、誘電損失、インピーダンスまたはアドミタンスである。

【0024】さらに、好ましくは、前記生物質は、核酸、蛋白質、オリゴペプチド、及び細胞のうちから選ばれた少なくとも1種以上の物質を含む。

【0025】さらに、好ましくは、前記電気的な微細検出器は、第2の基板の第2の表面上に、微細流路の両端周辺に配される少なくとも1対の電気泳動用の第2の電極をさらに含み、（c）段階で注入されたサンプルは、電気泳動によって微細流路に沿って移動しつつDNAバンドを形成する。

【0026】さらに、好ましくは、（b）段階前にサンプルをPCRする段階をさらに含み、前記検出器は、少なくとも1つのPCRチャンバを含み、サンプルは、PCRチャンバ内でPCRされたPCR生成部を含む。

【0027】さらに、好ましくは、（d）段階の誘電特性の変化の検出は、5mV～2Vの V_{rms} 及び0V～10Vのバイアス電圧条件下で、1Hz～100MHzの範囲で周波数を固定し、または、周波数を変化させつつスキャンして誘電特性の変化を測定することにより行われる。

【0028】

【発明の実施の形態】本発明は様々なマイクロ分析システムに用いられる電気的な微細検出器（マイクロエレクトロニカル検出器）に関する。本発明は、試料に電荷を帯びた高分子がある場合、誘電定数、誘電損失、インピーダンス、またはアドミタンスなどの誘電的特性が変わる性質に着目してなされたものであって、この検出器は、マイクロ分析システムのマイクロチャンネル内に位置する試料の誘電的特性などを測定して生物学的物質

（生物質）の検出を行うことを特徴とする。本発明の微細検出器は、単一のチップ上に統合されて、PCRチップ（ポリメラーゼ連鎖反応チップ）やCEチップ（毛細管電気泳動チップ）を含む色々な分析システムに簡便に利用できる。ラブ・オン・チップでは、チップ上の微細流路内で試料の注入、前処理工程、遺伝子増幅、電気泳動、分析などが一括的に行われる。従って、チップの駆動時に生物学的物質、特にDNAの流れを正確にモニタリングすることにより、信頼性及び正確性の優れたチップを実現することができる。

【0029】従って、本発明の検出システム（電気的な微細検出器）は、第一には、ラブ・オン・チップを含むマイクロ分析システム内に適用され、このような誘電特性及びインピーダンスを検出する検出部を微細流路の幾つかの個所に実現することによりDNAの流れをモニタリングする素子として利用できる。また、本発明の検出システムは、第二には、DNAラブ・オン・チップに必須的なPCR／電気泳動チップのDNA検知部分である微細流路において、DNAのサイズの大小に応じて分離さ

れた複数のDNAバンドをセンシングするのに利用できる。

【0030】本発明の検出システムでは、第1の基板の上面には試料が流動する微細流路及び貯蔵部（リザーバー）が形成されており、前記第1の基板と接合されて微細流路の上面を形成する第2の基板の下面には、第1の基板との接合時に、微細流路の上面に相当する位置内に、互いに所定間隔をおいて配列された1対以上の単一電極あるいはインターデジット電極を含む検出部を備えることを特徴とする。

【0031】前記検出部の上記の単一電極あるいはインターデジット電極の両端間に特定周波数の入力波を与え、誘電定数、誘電損失、インピーダンス、またはアドミタンスを測定して試料の誘電的特性の変化をモニタリングすれば、試料中に含まれたDNAなどの高分子物質を検出することができる。本発明の基礎実験の結果によれば、DNAが存在する試料の誘電定数または誘電損失値の変化は、DNAを含まない試料の場合と比べて、10倍以上に変化し、優れた検出特性を有するということが分かった。

【0032】前記の如き本発明の検出システムが毛細管電気泳動チップに用いられる場合、電気泳動を生じさせるための電気泳動電極と上記の検出部の電極とが一つの平面上、たとえば上記第2の基板の第2の表面上に形成されるので、半導体工程及びMEMS工程における製造工程が単純になると共に、容易になるといった利点を有する。

【0033】本発明の他の特徴及び利点は添付図面に基づく下記の説明により一層明白になる。

【0034】図1は、本発明の検出システム100をPCR/CEチップに適用した例を示す図面である。図1において、検出システム100は、互いに重ね合わされた第1の基板及び第2の基板を含む。説明の便宜のために、図1では、第1の基板の第1の表面11と第2の基板の第2の表面12とを互いにオーバーラップして示している。すなわち、第1の基板の第1の表面11に形成されている構造と、第2の基板の第2の表面12に形成されている構造とをともにオーバーラップさせて図1に示されている。

【0035】ここで、第1および第2の基板は、ガラス、シリコン、石英、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、ポリイミド、ポリプロピレン、ポリカーボネート、活性化したアクリルアミド、及びこれらの複合体のうちから選ばれた1種以上の材料を含む。

【0036】図1のシステムにおいて、第1の基板の上面（第1の表面）には、電気泳動が行われる微細流路6と、貯蔵部の一例であるPCRチャンバ2とが形成されており、第2の基板の下面（第2の表面）には、上記検出のための検出電極5（第1の電極）と電気泳動を生じ

させるための電気泳動電極4（第2の電極）とが形成されている。そして、第1の基板の上面と第2の基板の下面とが接するように構成されている。ここで、微細流路6は、電気泳動のための毛細管チャンネルとしての役割を果たす。また、第1の基板には、試料注入口1及び試料排出口（図示せず）と、PCRチャンバ2から試料が流体移動するための圧力印加部3がさらに形成されている。なお、本実施の形態と異なり、第2の基板側に、試料注入口1と試料排出口が形成されていてもよい。

【0037】本発明では、電気泳動のための電気泳動電極5と検出部の検出電極4とを単一のマスクを用いて形成する。すなわち、すべての複数の電極が、単一のマスクを用いた一段階のフォトリソグラフィ工程により形成される。このように、一回のフォトリソグラフィ工程及びリフトオフにより電気泳動電極及び検出電極を形成することにより、製造工程を極めて単純化させている。このような効果は、検出電極が第1の基板側における微細流路の隔壁に形成される従来の方法によっては達成できないものである。

【0038】図2は、本発明の電気的な微細検出器において、微細流路6と検出部7との関係を示す拡大図である。検出部7は、1対の検出電極、または微細流路6に沿って互いに所定間隔をおいて配列された2対以上の検出電極を含む。前述のように、微細流路は第1の基板上に形成され、検出用の電極5は第2の基板上に形成される。前記検出用の電極5は、第1の基板及び第2の基板が組み合わされて電気的な微細検出器を形成する時、微細流路の底面に対向して位置することになる。

【0039】検出部7の電極は、微細流路に沿って伸延された2本の直線状電極からなる単純な形（図2の（a）にて表示）であってもよく、またはインターデジット電極（図2の（b）にて表示）であってもよい。ここで、インターデジット電極（IDE: interdigit electrode）とは、電極間の作用面積を広くするために両電極を各々タコ足状のアレイ状に形成して各々の線形電極が反対の線形電極と交差して噛み合っているような構造であって、図2の（b）に示されたような電極形態を意味する。いいかえれば、インターデジット電極とは、一対の電極を形成する各電極が複数の分岐を有しており、一つの電極の分岐と他の電極の分岐とが交互に配置されるタイプの電極である。

【0040】このシステムの動作原理及び検出方法は、下記の通りである。

【0041】2つの注入口1に人の血、あるいは毛根細胞、頬の細胞などを溶解させた溶液及びPCR緩衝液を入れて混合機により混合した後にPCRチャンバ2内に流入させる。チャンバ内において30サイクル以上の酵素反応を通じてDNAの特定の部分を増幅させる。この結果、サンプルには、PCRチャンバ2内でPCRされたPCR生成物が含まれることとなる。その後、圧力印

加部 3 を用いて圧力を与える。この圧力によって、サンプルを、電気泳動のための微細流路 6 へ移動させる。電気泳動のための微細流路 6 の両端近傍に電気泳動電極 4 を通じて直流高電圧を加える。この結果、電気泳動が生じて、この際に DNA の大きさ（長さ）に応じて移動速度が異なるため、同じ大きさの DNA が高密度に集まった DNA バンドを形成しつつ DNA が移動する。すなわち、サンプルは、電気泳動によって微細流路に沿って移動しつつ DNA バンドを形成する。検出器では、誘電的特性の測定を通じてこの DNA バンドをモニタリングすることにより、リアルタイムにて DNA 流動を観察することができる。

【0042】微細流路の方向に電気泳動のための高電圧がかかっているために、検出用の電極 5 を微細流路の方向に沿うように配置して測定電圧の方向を電気泳動電場（電圧）と垂直にすることが望ましい。これは、DNA バンドの検出に際し、電気泳動電場による雑音の混入の余地を最少化させるためである。

【0043】検出用の電極 5 の両端に測定装備または回路での測定電圧の出力端子を接続させて誘電定数、誘電損失、インピーダンス、アドミタンスなどの誘電的な特性を測定する。

【0044】図 3 は、電気泳動方向に対し垂直に切り取った断面であり、本発明の一実施の形態による電気泳動チップ上の検出器に電圧が印加されて動作する状態を示す。図 3 に示されたように、第 2 の基板の第 2 の表面 12 上に少なくとも一対の検出電極 5 が形成されており、この一対の電極 5 は、微細流路 6 内の底面に対向して位置するように配置される。そして、DNA が含まれた溶液はこの断面図の紙面の前方から後方へと流れる。

【0045】本発明に係る検出システムの作動のために、0.1 Hz ~ 100 MHz の周波数を有する交流信号電圧を検出電極 5 に印加する。 V_{rms} (root mean square: 平方自乗平均電圧) を 5 mV ~ 2 V、より好ましくは 5 mV ~ 1.1 V の電圧とし、バイアス電圧を 0 V ~ 10 V とする。

【0046】この場合、検出電極 5 間に図面の如き電場（電界）が形成され、この電場を通る荷電された粒子はこれらの電場に反応して特有の動きを示す。電極 5 の両端間の誘電媒質内（絶縁媒質内）に誘発双極子や永久双極子が存在するか、あるいは帯電された粒子が存在する場合、両極に交流の電場を加えることによって静電容量が増える傾向がある。ただし、このような誘電現象の特徴は、両電極 5 間に存在する媒質に応じて極めて様々な様相を有する。実際に、ある物質の誘電特性において重要なのは、誘電定数及び反応時間である。誘電定数は、双極子モーメントの量または電荷量と直接的な関係があり、反応時間は、粒子の質量、粒径及び周りの環境に大いに影響される。また、電極 5 間のインピーダンス測定やアドミタンス測定を実行することもできる。こ

で、インピーダンスとは、交流信号電圧が印加される時に交流の流れを妨げるものを意味し、アドミタンスは、インピーダンスの逆数である。これらの値もまたイオンの濃度、DNA などの存否及び長さに応じて変わる。また、DNA 以外の生物質、たとえば蛋白質、オリゴペプチド、および細胞などがサンプル中に存在する場合にも、電極 5 を用いて種々の誘電特性の変化を検出することによって、これらの生物質を確認することができる。

【0047】DNA 電気泳動を例にとって説明すれば、高濃度の DNA バンドが形成される微細流路 6 の部分には DNA の負の電荷を相殺させるための多くのカウンターイオンが密集されている。したがって、DNA が存在する場合とそうでない場合との信号差は一層大きくなる。一般に、DNA などを検出するためのメカニズムは、試料の誘電定数、インピーダンス、またはアドミタンスを測定して各々の DNA の存否状態での特性値の差を比較することにより実行することができる。

【0048】以上のとおり、本実施の形態におけるマイクロ分析システムにおけるサンプルモニタリング方法は、上述した構成の電気的な微細検出器を微細分析システム（マイクロ分析システム）に提供する段階と、検出電極 5 に電極を提供する段階と、微細流路 6 内にサンプルを注入する段階と、サンプルが微細流路 6 に沿って流れる時に、検出用電極 5 を有する検出部でサンプルの誘電特性の変化を検出することにより、サンプル内の生物質を確認する段階とを含む。

【0049】上述した例では、1 対の検出用電極 5 を第 2 基板の第 2 表面 12 上に形成する場合を示したが、本発明はこの場合に限られず、検出部が、微細流路 6 に沿って互いに所定間隔を置いて配列された少なくとも 2 対の検出用電極を有していてもよい。

【0050】図 4 を見れば、検出用の電極 5 と電気泳動用の電極 4 とが単一のフォトリソグラフィ過程を通じて 1 つの表面に同時に形成される。そして、同様に、検出用電極の数に関係なく単一の段階で全ての電極を形成することができる。

【0051】従って、本発明の検出システムによれば、微細流路の複数の個所に同一の電極 5 を形成するとしても、単一の製造工程により全ての電極の形成がなされるので、複数の対の検出用電極を有するマルチ検出器の構造を採用する場合であっても、製造コストが上がることはない。また、同一平面上に電極を具現するので製作工程が単純になる。さらに、誘電的特性の測定モジュールさえあれば測定が可能になるので、チップの製造コストを顕著に下げることができる。

【0052】本発明の検出方法によれば、測定メカニズムが単純であるのでチップの構造及び周辺装置の最少化が可能であり、他の測定方式では得られない DNA の長さ及び応答速度などの付加情報を得ることができる。

【0053】さらに、本発明によれば、光学検出法とは異なって、不透明な材質のチップでもDNA検出器を実現することができる。

【0054】さらには、本発明の検出器に用いられる電極の構造は、DNAの検出ばかりではなく、両端に強い静電圧を加えることによりDNAの流れが断続可能なスイッチや弁としても兼用することができる。

【0055】本発明の検出システムを採用したラブ・オン・チップは、PCR／電気泳動遂行部のDNAの検出部分にこの検出器を用いてDNAバンドを検出することができる。PCR／電気泳動を行うチップの場合、DNAがそのサイズ(長さ)に応じて分離されてDNAバンドの形で微細流路上に存在する。したがって、DNAバンドの存在の有無をオン／オフ検出することも可能である。したがって、本発明は製造工程の容易さ及び性能の側面で最適のDNAバンドの検出方法を提供することができる。

【0056】以下、実施例を通じて本発明を一層詳細に説明する。これらの実施例は本発明を例示するためのものであって、本発明の範囲がこれらの実施例により制限されると解釈されることはない。

【0057】実施例1

電気的な微細検出器付きPCR／CEチップの製造工程
図4は、本発明の微細検出器が装着されるチップの製造工程を示す図面である。第1の基板はシリコン基板またはガラス基板などの様々な基板が使用可能であるが、シリコン基板を使用する場合、先ず、湿式酸化法を用いて適当な厚さの酸化膜を形成する(図4の(A))。フォトリソグラフィ(図4の(B))及び反応性イオンエッチング(RIE: Reactive Ion Etching)(図4の(C))あるいは湿式エッチング工程によりPCR遂行部及び電気泳動遂行部をエッチングする。エッチング後に、フッ酸希釈液を用いて残存する酸化膜を除去した後に適当な厚さの酸化膜を再び形成する(図4の(D))。この酸化膜は、DNAが基板の表面に吸着することを防止するためのものであって、チャンバ内において親水性膜の役割を果たす。

【0058】第2の基板であるガラス基板にフォトリソグラフィにより注入口及び排出口パターンを形成した後(図4の(E))、サンドブラストを用いて注入口、排出口を加工する(図4の(F))。残存するフォトレジスト膜をアセトンで溶かした後に再びフォトリソグラフィを行い、電極パターンマスクを形成する。電極パターンマスクの形成されたガラス基板をスパッタリングしてPt/TiまたはAu/Cr薄膜を順次に蒸着した後に、アセトンを用いてリフトオフして電極パターンを具現する。この結果、1対または2対以上の検出用電極と、電気泳動を行うための電気泳動用電極とが一度に形成される。

【0059】前記のように製造されたPCRチャンバ及

び電気泳動のための微細流路が含まれた第1の基板の上面(第1の面)と検出器電極が具現された第2の基板の下面(第2の面)とを陽極接合法により接合する(図4の(H))。接合したウェーハをダイシングして最終チップを得る。なお、第1および第2の基板に応じて、種々の接合法を採用することができる。第1の基板の第1の表面と第2の基板の第2の表面とを接合する段階は、ポリマーフィルムを介して接合するポリマーフィルム接合法、または加熱することによって接合する熱接合法などの種々の接合法により実現することができる。

【0060】本発明では、電気泳動のための微細流路6の両端周辺、すなわち、微細流路の端部に位置する注入口及び排出口の近傍に設けられた電気泳動電極と、検出部の部分の電極とを1枚のフォトマスクで実現することができ、一回のフォトリソグラフィ工程及びリフトオフにより電気泳動電極及び検出電極を同時に形成することにより、製造工程を極めて単純化させた。これは、検出電極を第1の基板面上の微細流路の隔壁ではなく、他方の第2の基板面に具現することにより可能になった。

【0061】実施例2

DNAの検出

製作されたチップ内にPCR反応物をマイクロチャンバ内へ移動させた後に温度サイクルを回してPCR反応を起こす。PCR生成物を電気泳動のための微細流路まで移動させた後に電気泳動のための微細流路の両端に特定の電圧を加えて電気泳動を行う。これと同時に、検出部の電極の両端に交流信号電圧を加えつつ試料の誘電定数、誘電損失、インピーダンス、アドミタンスなどの誘電的特性を測定する。実際に、DNA移動などの動力学的な情報を得る時には低周波から高周波にスキャンするモードを主として使用する。一方、電気泳動のDNAバンドを観察するためにはDNA+緩衝液と標準緩衝液との特性値の差が大きい周波数帯域を選定し、この周波数帯域の一周波数に固定して誘電的特性を観察することにより、DNAバンドの移動の状態を観察することができる。すなわち、目的によって、1Hz~100MHzの範囲で周波数を固定して誘電特性の変化を測定したり、上記の範囲で周波数を変化させつつスキャンして誘電特性の変化を測定したりすることができる。

【0062】実施例3

周波数による誘電的特性曲線

図5、6、及び7は、実際に微細流路レベルの検出部を具現して両電極に交流信号電圧を加え、試料が蒸留水、緩衝液、緩衝液+DNAの場合について、誘電定数、インピーダンス、アドミタンスなどの誘電的特性を測定した。

【0063】図5は、0.1Hzから10⁸Hzまで測定した誘電定数または誘電損失データである。この実験条件では、誘電損失よりは誘電定数の値の方が、溶液内のDNAの存否に応じてその差が大きかった。DNAが

存在しない緩衝液 (buffer: NaH_2PO_4) 溶液の誘電定数値に対するDNAが存在する緩衝液 (DNA 溶液) の誘電定数値の差は、低周波と高周波帯域とでは少なく現れるが、 $10\text{Hz} \sim 100\text{kHz}$ において10倍以上の値の差が生じた。DNAが約 $1\mu\text{M}$ の低濃度でも約10倍の誘電定数差を示したので、実際のPCR生成物の濃度レベル ($100\mu\text{M}$ 以上) の場合は、さらに容易に検出可能である。誘電損失の場合には、誘電定数の値の変化の場合と比べて、緩衝液とDNA溶液における値との間に大差はなかった。これは、実際に使われたDNAを構成する塩基が15個と (15mer) 極めて短いものであったからである。DNAがさらに長くなると、DNA溶液における誘電損失値が緩衝液の誘電損失値に対して大きい差を有するように、誘電損失が大きく示される周波数帯域が移動する。実際に、PCR生成物の場合には、約 $100\text{bp} \sim 1\text{kb}$ であるので、誘電損失によっても、十分にDNAの存否が判別できると判断される。

【0064】図6は、同一条件下で測定されたインピーダンスデータである。インピーダンスの実数部の場合には $10\text{Hz} \sim 100\text{kHz}$ の辺りで安定した数値を示し、緩衝液と $1\mu\text{M}$ のDNA溶液とは約3~4倍のインピーダンス差を示した。これは、誘電定数において10倍の差が生じたことと比較すると、選択度が落ちるということを示す。これに対し、インピーダンスの虚数部の場合には $50\text{kHz} \sim 1\text{MHz}$ において極めて優れた検出特性を示した。緩衝液及び $1\mu\text{M}$ のDNA溶液は、インピーダンスの虚数部の値において約10倍の違いが生じており、高い選択度を有することが分かる。

【0065】図7は、同一条件下におけるアドミタンスの実数部及びアドミタンスの虚数部値との値を示す。アドミタンスの実数部の場合には、 100Hz 以上では全ての場合に安定した一定値を示し、緩衝液及び $1\mu\text{M}$ のDNA溶液は約4倍の選択度を有する。アドミタンスの虚数部の場合には、アドミタンスの実数部とは異なっており、約 $100\text{Hz} \sim 100\text{kHz}$ において優れた選択度を有し、緩衝液及び $1\mu\text{M}$ のDNA溶液との間で最大10倍の差を示した。

【0066】以上の実験結果から、各々の特性値はDNAの濃度及び塩基数 (bp)、緩衝液の種類及び濃度によって強い依存性を示すことが分かる。この他にも、電極の材質及び構造、温度等の外部の環境によって様々な依存性を示す。従って、チップのデザイン、PCRされた遺伝子の種類及び選択された緩衝液などに応じて適切な特性値及び周波数帯域を選択しなければならない。

【0067】

【発明の効果】本発明の検出システムによれば、微細流路の複数の個所に同一電極を形成する場合であっても、

単一の製造工程により全ての電極を形成することができることから、複数の検出用電極を有するマルチ検出器の構造を採用する場合であっても、製造コストが上がらない。また、同一平面上に電極を具現することから、製作工程が単純化し、且つ、チップの製造コストが格段に下がる。

【0068】さらに、本発明の検出方法によれば、測定メカニズムが単純であることから、チップ構造及び周辺装置の最小化が可能であり、他の測定方式では得られない存在するDNAの長さ及び応答速度などの付加情報を得ることができる。

【0069】さらに、本発明の検出システムを採用したラブ・オン・チップは、PCR/電気泳動遂行部のDNAの検出部分にこの検出器を用いることから、性能の面で最適のDNAバンドの検出方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の一実施の形態による検出システムを含むPCR/CEチップの概略図である。

【図2】 本発明の一実施の形態によるチップの微細流路及びこの微細流路内の検出部の構造を拡大して示すものである。

【図3】 本発明の一実施の形態による検出部の動作状態を示すものである。

【図4】 本発明の一実施の形態による検出部が装着されたチップの製作工程図である。

【図5】 本発明の検出システムで測定した、蒸留水、緩衝液、様々な濃度のDNA溶液における周波数による誘電定数または誘電損失の特性を示すグラフである。

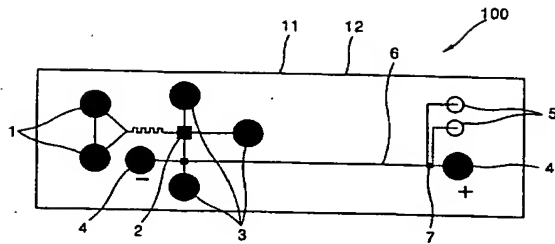
【図6】 本発明の検出システムで測定した、蒸留水、緩衝液、様々な濃度のDNA溶液における周波数によるインピーダンスの実数部及び虚数部の値を示すグラフである。

【図7】 本発明の検出システムで測定した、蒸留水、緩衝液、様々な濃度のDNA溶液における周波数によるアドミタンスの実数部及び虚数部の値を示すグラフである。

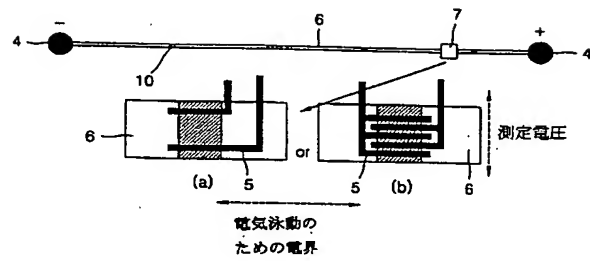
【符号の説明】

- 1...試料注入口、
- 2...PCRチャンバ、
- 3...圧力印加部、
- 4...電気泳動電極、
- 5...検出電極、
- 6...微細流路、
- 7...検出部、
- 11...第1の表面、
- 12...第2の表面、
- 100...検出システム。

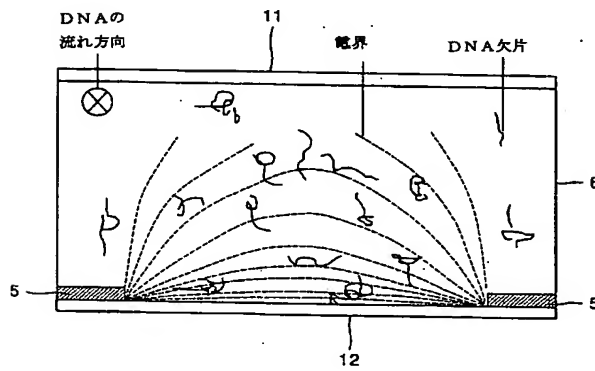
【図1】



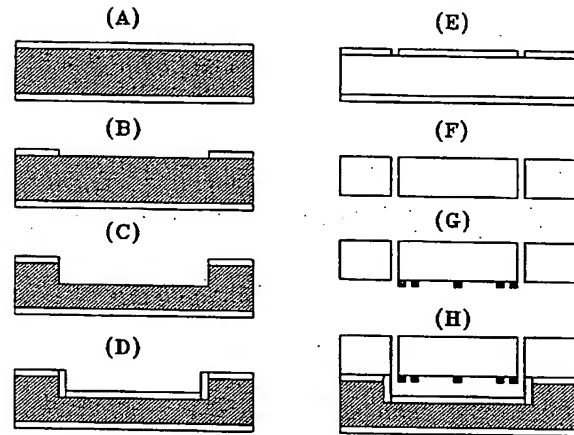
【図2】



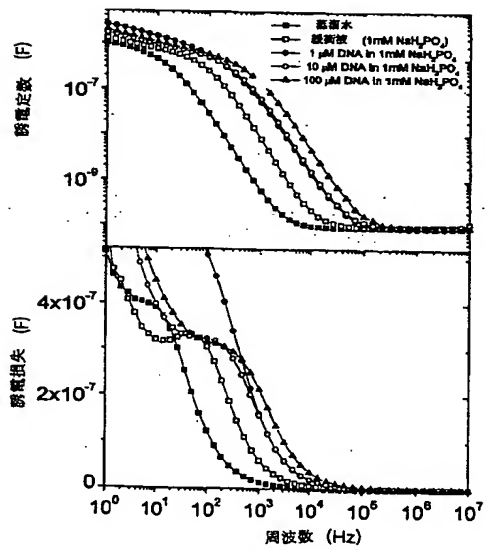
【図3】



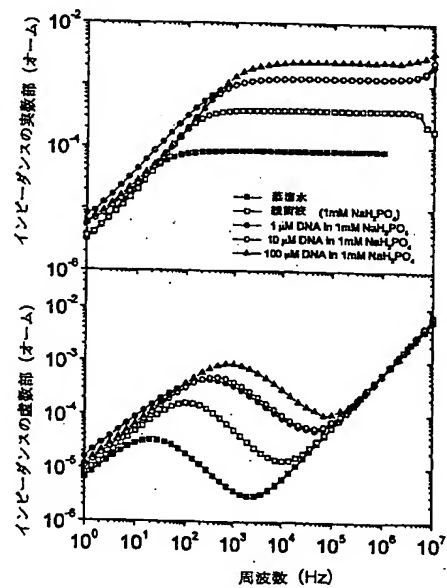
【図4】



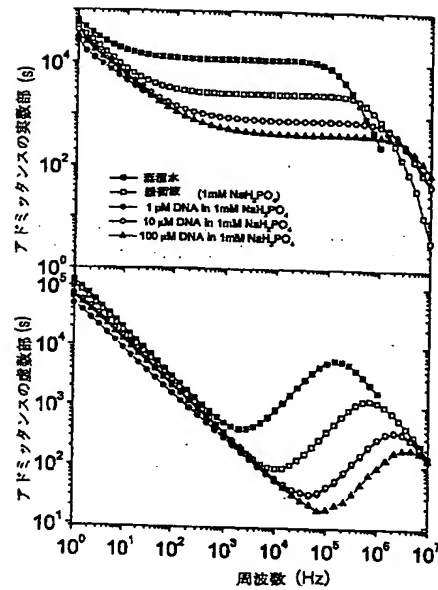
【図5】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷		識別記号	F I	テーマコード* (参考)
G 0 1 N	33/53		G 0 1 N 37/00	1 0 2
	37/00	1 0 1	27/26	3 3 1 E
		1 0 2	C 1 2 N 15/00	F
			G 0 1 N 27/26	3 3 1 Z
(72)発明者 姜 成 浩			(72)発明者 林 根 培	
大韓民国京畿道始興市正往洞1878-5番地			大韓民国京畿道水原市八達区靈通洞1053-	
東原アパート108棟303号			2番地 風谷マウル豊林アパート232棟	
(72)発明者 李 英 善			1205号	
大韓民国京畿道龍仁市器興邑農書里山14-			F ターム (参考)	
1番地 三星綜合技術院内			2G045 AA24 BA11 DA13 FB05 JA01	
			2G060 AA06 AC10 AD06 AE17 AF06	
			AF11 AG10 AG15 FA01 FA14	
			FB02 HA02 HC07 HC10 HC18	
			HD03 HE03 KA06	
			4B024 AA11 AA19 HA12	
			4B029 AA07 AA23 BB20 FA15	